

**STABILIZED COMPOSITION OF AQUEOUS SOLUTION OF REDUCED COENZYME Q**

**Publication number:** JP2003119126  
**Publication date:** 2003-04-23  
**Inventor:** FUJII KENJI; KAWABE TAIZO; HOSOE KAZUNORI;  
HIDAKA TAKAYOSHI  
**Applicant:** KANEGAFUCHI CHEMICAL IND  
**Classification:**  
**- international:** **A61K31/085; A61K47/18; A61K47/22; A61P3/02;  
A61P9/00; A61P43/00; C07C43/23; A61K9/127;  
A61K31/075; A61K47/16; A61K47/22; A61P3/00;  
A61P9/00; A61P43/00; C07C43/00; A61K9/127; (IPC1-  
7): A61P3/02; A61P9/00; A61K31/05; A61K9/08;  
A61K47/12; A61K47/14; A61K47/18; A61K47/20;  
A61K47/22; A61K47/46**  
**- european:** **A61K31/085; A61K47/18; A61K47/18B; A61K47/22;  
C07C43/23**  
**Application number:** JP20010312181 20011010  
**Priority number(s):** JP20010312181 20011010

**Also published as:**

EP1440962 (A1)  
WO03033445 (A1)  
US2005070481 (A)  
CN1564796 (A)  
CA2461550 (A1)

**Report a data error he****Abstract of JP2003119126**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a composition and a preservation method for maintaining an aqueous solution of a reduced coenzyme Q more stably against oxidation because the reduced coenzyme Q expected to have a high utility as an antioxidant is known to be hydrophobic, easily oxidizable and unstable. **SOLUTION:** The reduced coenzyme Q can stably be maintained in the aqueous solution for a long period by adding an antioxidant such as vitamin C, or a chelating agent such as ethylenediamine tetraacetate to the aqueous solution of the reduced coenzyme Q.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-119126

(P2003-119126A)

(43) 公開日 平成15年4月23日 (2003. 4. 23)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	キーワード (参考)
A 6 1 K 31/05		A 6 1 K 31/05	4 C 0 7 6
9/08		9/08	4 C 2 0 6
47/12		47/12	
47/14		47/14	
47/18		47/18	

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 5 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2001-312181(P2001-312181)

(22) 出願日 平成13年10月10日 (2001. 10. 10)

(71) 出願人 000000941

鐘淵化学工業株式会社

大阪府大阪市北区中之島3丁目2番4号

(72) 発明者 藤井 健志

兵庫県神戸市北区花山中尾台2-5-11

(72) 発明者 川辺 泰三

兵庫県姫路市飾磨区下野田1-7-203

(72) 発明者 細江 和典

兵庫県高砂市西畑3-8-17

(72) 発明者 日高 隆義

兵庫県神戸市垂水区本多聞2-21-8

最終頁に続く

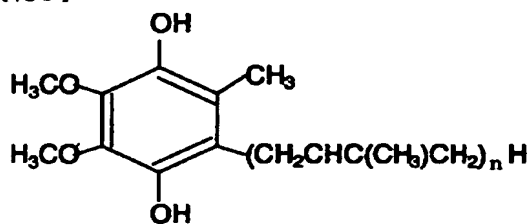
(54) 【発明の名称】 還元型補酵素Q水溶液の安定化組成

(57) 【要約】

【課題】 抗酸化剤として高い有用性が期待できる還元型補酵素Qは、疎水性であると共に酸化を受けやすく不安定であることが知られている。この還元型補酵素Qの水溶液を酸化に対してより安定的に維持するための組成あるいは保存方法を明らかにする。

【解決手段】 還元型補酵素Q水溶液にビタミンCなどの抗酸化剤あるいはエチレンジアミンテトラ酢酸などのキレート剤を添加することにより、還元型補酵素Qを水溶液中でより長期間、安定に維持できることが判った。

【化1】



(1)

【0001】

[ 0 0 0 2 ]

【従来の技術】補酵素Qは、細菌から哺乳動物まで広く生体に分布する必須成分であり、生体内の細胞中におけるミトコンドリアの電子伝達系構成成分として知られている。補酵素Qは、ミトコンドリア内において酸化と還元を繰り返すことで、電子伝達系における伝達成分としての機能を担っているほか、還元型補酵素Qは抗酸化作用をもつことが知られている。ヒトでは、補酵素Qの側鎖が繰り返し構造を10個持つ、補酵素Q<sub>10</sub>が主成分であり、生体内においては通常40～90%程度が還元型で存在している。補酵素Qの生理的作用としては、ミトコンドリア賦活作用によるエネルギー生産の活性化、心機能の活性化、細胞膜の安定化効果、抗酸化作用による

【 0 0 0 6 】 補酵素 Q に酸化型と還元型が知られており、酸化型補酵素 Q<sub>1</sub>、(ユビデカレノンまたはユビキノ) の可溶化方法に関しては従来から数多くの研究が行われてきた。酸化型補酵素 Q<sub>1</sub> の可溶化方法としては、リポソームによる被覆、界面活性剤あるいは油脂による懸濁など種々の方法が報告されている (特開平 5-186340、特開平 7-69874、特表 2000-510841) が、実用に供された例は少ない。その理由のひとつとして、酸化型補酵素 Q<sub>1</sub> が抗酸化活性を示すためには還元酵素などによって還元型に変換される必要があるが、血中には還元酵素が存在しないため注射などによる投与では血中の酸化ストレスに対する抗酸化活性が期待できないことが挙げられる。一方、還元型補酵素 Q

10はそれ自身が抗酸化活性を有することから、上記のような疾患に対する有用性が大いに期待できる物質ではあるが、酸化を受けやすく不安定であるという欠点があり実用には供しえなかった。還元型補酵素Q<sub>10</sub>のリボソーム被覆体を酸化還元酵素などの研究のために作製したという研究報告はあるが(Kishi等、1999、BioFactors、10、131-138)、用いられているリボソームは実験毎の用時調製例であり、安定的に還元型補酵素Qを維持できる可溶化方法については全く知られていなかった。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、還元型補酵素Qの酸化安定性を改良した水溶液を提供することを目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】本発明者等は上記の課題を克服するために研究を行った結果、還元型補酵素Qの安定性を高めるために適した水溶液の組成を見出し、本発明を完成するに至った。

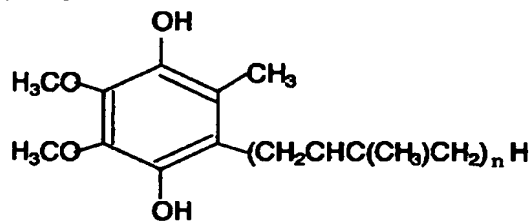
【0009】即ち本発明は、リン脂質及び／又は糖脂質で構成されるリボソームで被覆し、リン脂質及び／又は糖脂質を用いて乳化し、界面活性剤により可溶化もしくは乳化し、又は油脂により乳化した還元型補酵素Q<sub>10</sub>の水溶液中における酸化に対する安定性をより増加させるために、抗酸化剤および／またはキレート剤を添加した水溶液に関する。

【0010】

【発明の実施の形態】補酵素Qは、下記式(1)；

【0011】

【化2】

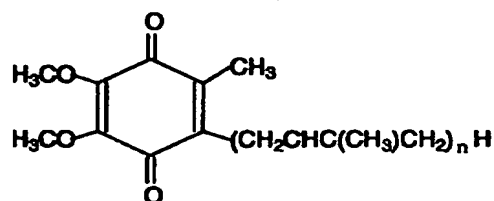


(1)

(式中、nは1~12の整数を表す)および下記式(2)；

【0012】

【化3】



(2)

10 (式中、nは1~12の整数を表す)で表され、式

(1)は還元型補酵素Qを表し、式(2)は酸化型補酵素Qを表す。

【0013】本発明で用いる補酵素Q含有組成物は、式(1)で表される還元型補酵素Qを含有し、補酵素Q全量中、還元型補酵素Qを20重量%以上含有するのが好ましく、40重量%以上含有するのがより好ましい。

【0014】上記還元型補酵素Qを得る方法としては特に限定されないが、例えば、合成、発酵、天然物からの抽出等の従来公知の方法により補酵素Qを得た後、クロマトグラフィーにより流出液中の還元型補酵素Q区分を濃縮する方法などを採用することができる。この場合には、必要に応じて上記補酵素Qに対し、水素化ほう素ナトリウム、亜ジチオン酸ナトリウム(ヒドロサルファイトナトリウム)等の一般的な還元剤を添加し、常法により上記補酵素Q中に含まれる酸化型補酵素Qを還元して還元型補酵素Qとした後にクロマトグラフィーによる濃縮を行っても良い。また、既存の高純度補酵素Qに上記還元剤を作用させる方法によっても得ることができる。

30 【0015】本発明で使用する補酵素Qは、前記式(1)および(2)で表されるように、側鎖の繰り返し単位(式中n)が1~12のものを使用することができるが、側鎖繰り返し単位が10のもの、すなわち補酵素Q<sub>10</sub>が特に好適に使用できる。

【0016】本発明の水溶液を得る方法としては特に限定されないが、例えば、還元型補酵素Qを含有する補酵素Qと適当な抗酸化剤および／またはキレート剤を、適当な基剤を用いてリボソームで被覆し可溶化することにより得ることができる。あるいは、還元型補酵素Qを含有するリボソームに適当な抗酸化剤および／またはキレート剤の水溶液を添加することにより得ることができる。あるいは、これらの組成物を適当な界面活性剤あるいは油脂によって可溶化もしくは乳化することによっても得ることができる。

【0017】この時に用いることができる抗酸化剤としては、クエン酸、クエン酸誘導体、ビタミンC、ビタミンC誘導体、プロブコール、リコペン、ビタミンA、カロテノイド類、ビタミンB、ビタミンB誘導体、フラボノイド類、ポリフェノール類、グルタチオン、セレン、チオ硫酸ナトリウム、ビタミンE、ビタミンE誘導体、

スーパーオキシドディスムターゼ（SOD）、グルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ、グルタチオン還元酵素、カタラーゼ、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ、およびこれらの混合物が挙げられる。

【0018】また、キレート剤としては、エチレンジアミンテトラ酢酸およびその塩、エチレンジアミンジ酢酸およびその塩、ヒドロキシイミノジ酢酸およびその塩、ヒドロキシエチルエチレンジアミンテトラ酢酸およびその塩、ジエチレントリアミンペンタ酢酸およびその塩、ニトリロトリ酢酸およびその塩、トリエチレントトラアミンヘキサ酢酸およびその塩、ジカルボキシメチルグルタミン酸テトラナトリウム塩、ジヒドロキシメチルグリシン、1、3-プロパンジアミンテトラ酢酸およびその塩、1、3-ジアミノ-2-ヒドロキシプロパンテトラ酢酸およびその塩、グルコン酸ナトリウム塩、ヒドロキシエチルイデンジホスホン酸、ニトリロトリス、ホスホノブタントリカルボン酸、およびこれらの混合物が挙げられる。

【0019】上記のようにして調製される水溶液には、更に、薬剤学的に許容されている他の製剤素材を常法により適宜添加混合してもよい。添加しうる製剤素材としては特に限定されず、例えば、乳化剤、緊張化剤、緩衝剤、溶解補助剤、矯臭剤、防腐剤、安定化剤などが挙げられる。更に、用途に即して他の有効成分、例えば薬剤、栄養補助成分などを加えても良い。

【0020】本発明による水溶液組成物の保存方法としては、特に限定されず、低温保存、密閉容器による嫌氣的保存、遮光保存などを用いることができる。

【0021】上記のようにして調製される本発明の水溶液は、酸化に対してより安定に還元型補酵素Qを維持することができる。

【0022】本発明による還元型補酵素Qを含有する水溶液は、医療用、化粧用、食品用、園芸用、酪農用など広い範囲で使用できる。具体的な形態としては注射剤、輸液、液剤、点眼剤、内服液剤、ローション剤、ヘアートニック、化粧用乳液、スプレー液、エアロゾル、ドリンク液、液体肥料、保存溶液などが挙げられ、医療用としては更に臓器移植時の保存溶液などとして用いることもできる。更に、上記の形態は動物用として用いてもよく、飼料として用いてもよい。また、酸化化溶液として肉、魚など生鮮食品の保存用に用いることもできる。

【0023】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。

【0024】（実施例1）抗酸化剤がリボソームで被覆された還元型補酵素Q<sub>10</sub>に与える酸化安定性  
リボソーム中での還元型補酵素Q<sub>10</sub>の酸化安定性を評価するために、40℃の保存条件で酸化安定性の悪い卵黄

レシチン（レシチン、和光純薬工業社製）をリボソームの基剤として選択し、還元型補酵素Q<sub>10</sub>（0.005%含有）の酸化安定性を高められる物質の評価を実施した。還元型補酵素Q<sub>10</sub>の維持率はHPLCで還元型補酵素Q<sub>10</sub>と酸化型補酵素Q<sub>10</sub>を分離した後、電気化学的検出器によってそれぞれの量を定量し、全補酵素Q<sub>10</sub>量に対する還元型の割合を算出した。卵黄レシチンを基剤として作製した0.005%還元型補酵素Q<sub>10</sub>含有リボソームに、種々の抗酸化剤を0.05%添加し、空気雰囲気下、40℃保存での酸化安定性を評価した。その結果、抗酸化剤を添加しないリボソームでは、保存1～2日後に維持率が10%以下にまで酸化を受けたのに対し、酢酸ビタミンEでは保存2日後で63%の維持率、チオ硫酸ナトリウムでは保存3日後で76%、クエン酸は保存8日後で54%、ビタミンCでは保存15日後で68%であった。しかし、ビタミンE（ $\alpha$ -トコフェロール）の添加では、明らかな効果はみられなかった。このようにリボソーム中の還元型補酵素Q<sub>10</sub>の安定化に対して抗酸化剤により、強い効果を示すものとマイルドな効果を示すものがあることが判った。ビタミンCが最も効果が強く、以下、クエン酸、チオ硫酸ナトリウム、酢酸ビタミンE、ビタミンEの順であった。

【0025】（実施例2）キレート剤がリボソームで被覆された還元型補酵素Q<sub>10</sub>に与える酸化安定性  
実施例1と同様にして還元型補酵素Q<sub>10</sub>の維持率に対するキレート剤の効果を評価した。エチレンジアミンテトラ酢酸を0.05%含有するリボソームを空气中、40℃で保存し、キレート剤の安定化効果を評価した。キレート剤を添加しないリボソーム中の還元型補酵素Q<sub>10</sub>は、保存1～2日後に維持率が10%以下にまで酸化を受けたのに対し、エチレンジアミンテトラ酢酸を添加したリボソームでは保存43日後で76%の維持率であった。

【0026】キレート剤であるエチレンジアミンテトラ酢酸は酸化を受けやすい物質に対する保護作用が知られてはいたが、今回の結果のように抗酸化剤以上の強い保護効果を示すことは全く予想外の結果であった。

【0027】（実施例3）界面活性剤溶液に対する抗酸化剤の効果（1）

0.005%還元型補酵素Q<sub>10</sub>の0.1%ポリソルベート80溶液に対し、抗酸化剤またはキレート剤を0.05%添加し、40℃で保存した。抗酸化剤を添加しない無添加溶液では保存6日後に維持率が27%になった。それに対し、ビタミンC添加溶液では、保存6日後でも88%が還元型のままで維持されていた。クエン酸では保存6日後には20%となり保護効果はみられなかった。

【0028】（実施例4）界面活性剤溶液に対する抗酸化剤の効果（2）

0.005重量%の還元型補酵素Q<sub>10</sub>を含有する0.

1%ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油溶液(HCO-60:日光ケミカルズ社製)に、抗酸化剤を0.05重量%になるように添加し、40℃で保存した。抗酸化剤を添加しない無添加溶液では保存7日後に維持率が17%になった。それに対し、ビタミンC添加溶液では、保存14日後でも73%が還元型のままで維持されていた。クエン酸では保存71日後でも61%が還元型で維持されており、ポリソルベート溶液とは明らかに異なった強い保護効果を示した。

【0029】(実施例5)界面活性剤溶液に対するキレート剤の効果(1)

実施例3と同様にして、キレート剤の効果を評価した。キレート剤を添加しない無添加溶液では保存6日後に維持率が27%になったのに対し、エチレンジアミンテトラ酢酸添加溶液では、リボソームと同様に強い保護効果\*

\*が見られ、保存78日後でも80%が還元型で維持されていた。

【0030】(実施例6)界面活性剤溶液に対するキレート剤の効果(2)

実施例4と同様の系でキレート剤の効果を評価した。キレート剤を添加しない無添加溶液では保存7日後に維持率が17%になったのに対し、エチレンジアミンテトラ酢酸添加溶液では、保存167日後でも74%が還元型で維持されていた。このように40℃の過酷条件下で、半年近い長期間に渡り、還元型補酵素Q<sub>10</sub>を高い割合で維持できることは、全く予想外の結果であった。

【0031】

【発明の効果】本発明により抗酸化物質あるいは栄養補助成分として有用性の高い還元型補酵素Qの液剤をより安定に供給できる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

識別記号

F I

タームコード(参考)

A 6 1 K 47/20

A 6 1 K 47/20

47/22

47/22

47/46

47/46

// A 6 1 P 3/02

A 6 1 P 3/02

9/00

9/00

Fターム(参考) 4C076 AA12 CC11 DD24S DD41S

DD43S DD51S DD59S DD63S

FF63

4C206 AA02 CA19 MA02 MA03 MA05

MA37 NA03 NA10 ZA36